

*5/Pr.w.t 7
Paper
Co
8-1-02*

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



IC868 U.S. PRO
10/09/2026
03/06/02

Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 101 12 386.8

Anmeldetag: 15. März 2001

Anmelder/Inhaber: Bruker Daltonik GmbH, Bremen/DE

Bezeichnung: Flugzeitmassenspektrometer mit Multiplex-Betrieb

IPC: H 01 J, G 01 N

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 30. Januar 2002
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Wele

Wehner



Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Flugzeitmassenspektrometer für die Analyse vieler Proben auf einem Probenträger durch Laserdesorption und zugehörige Analysenverfahren.

Die Erfindung besteht darin, im Flugzeitmassenspektrometer durch eine besondere Strahloptik
5 für den gepulsten Laserstrahl ein lagefestes Raster an Fokuspunkten zu erzeugen, jeweils ein
Raster von Proben auf einem Probenträger in das Raster der Fokuspunkte einzuführen, und die
Ionen aller Proben in den Laserfokuspunkten des Fokusrasters durch ein ionenoptisches
Abbildungssystem auf einen oder mehrere Ionendetektoren so abzubilden, dass die Proben des
Fokusrasters zeitgleich oder quasi-zeitgleich gemessen werden können. Das Raster an gepulst
10 auftretenden Fokuspunkten kann durch räumliche Strahllaufteilung zeitgleich, oder durch
zeitlich aufeinanderfolgende Ablenkung zwar ortsfest, aber in zeitlicher Aufeinanderfolge der
gepulst auftretenden Fokuspunkte erzeugt werden.

15 Abbildung 1

Flugzeitmassenspektrometer mit Multiplex-Betrieb

Die Erfindung betrifft ein Flugzeitmassenspektrometer für die Analyse vieler Proben auf einem Probenträger durch Laserdesorption und zugehörige Analysenverfahren.

Die Erfindung besteht darin, im Flugzeitmassenspektrometer durch eine besondere Strahloptik für den gepulsten Laserstrahl ein lagefestes Raster an Fokuspunkten zu erzeugen, jeweils ein Raster von Proben auf einem Probenträger in das Raster der Fokuspunkte einzuführen, und die Ionen aller Proben in den Laserfokuspunkten des Fokusrasters durch ein ionenoptisches Abbildungssystem auf einen oder mehrere Ionendetektoren so abzubilden, dass die Proben des Fokusrasters zeitgleich oder quasi-zeitgleich gemessen werden können. Das Raster an gepulst auftretenden Fokuspunkten kann durch räumliche Strahlaufteilung zeitgleich, oder durch zeitlich aufeinanderfolgende Ablenkung zwar ortsfest, aber in zeitlicher Aufeinanderfolge der gepulst auftretenden Fokuspunkte erzeugt werden.

Stand der Technik

Flugzeitmassenspektrometer mit Ionisierung der Proben durch gepulste Laserdesorption arbeiten wie folgt: Der Laserstrahl wird auf eine Probe fokussiert, die sich auf einem Probenträger befindet. Durch einen Laserdesorptionspuls werden Ionen der Analytmoleküle erzeugt. Eine angelegte Spannung beschleunigt die Ionen in ein feldfreies Flugrohr. Auf Grund ihrer verschiedenen Massen werden die Ionen in der Ionenquelle auf unterschiedliche Geschwindigkeiten beschleunigt. Kleinere Ionen erreichen den zeitauf lösenden Ionendetektor früher als größere. Aus den gemessenen, zeitaufgelösten Ionenströmen werden die Flugzeiten der Ionen ermittelt; aus den Flugzeiten werden die Massen der Ionen bestimmt. Für eine Erhöhung des Auflösungsvermögens lassen sich ein energiefokussierender Reflektor und eine verzögert einsetzende Beschleunigung einsetzen.

In der Biochemie besteht ein starker Zug zur parallelen Verarbeitung und Analyse sehr großer Probenzahlen. Besonders bekannt geworden ist die so genannte Chip-Technik, die mit ganzen Feldern ("Arrays") von Proben auf kleinstem Raum arbeitet. Für bestimmte Arten der Analyse solcher Probenfelder, zum Beispiel solche mit Anwendung der Fluoroszenzspektrometrie, gibt es bereits Geräte ("Chip-Reader"), die eine parallele Analyse aller Proben des Chips gleichzeitig oder zumindest durch Laserscanverfahren ein sequentielles Auslesen in wenigen Millisekunden pro Probe erlauben. Im Gegensatz dazu braucht die massenspektrometrische Analyse heute einige Sekunden pro Probe, ist also gegenwärtig um einen Faktor von etwa 1000 langsamer als die Chip-Reader.

Die Chip-Technik wird hauptsächlich in der Genetik, aber auch in der Proteinanalytik eingesetzt. In der Genetik werden meist verschiedenartige Oligonukleotide in den einzelnen Gefachen der Felder an die Oberflächen gebunden. Diese Oligonukleotide dienen als Erkennungssequenzen für amplifizierte DNA-Proben; sie werden häufig als "Sonden" bezeichnet. Ist in der

DNA der Probe ein zu dem Oligonukleotid komplementärer Strang vorhanden, so lagert sich die DNA an das Oligonukleotid an. Diese Anlagerung wird "Hybridisierung" genannt. Die angelagerten DNA-Stränge können dabei Fluoreszenzfarbstoffe mitbringen oder die Fluoreszenzwellenlänge von solchen Fluoreszenzfarbstoffen verändern, die sich bereits an den angebundenen Oligonukleotiden befinden. Die so beladenen Chips können dann in den genannten Chip-Readern gemessen werden, wobei die Fluoreszenz eines Gefaches die Anwesenheit der fraglichen DNA-Sequenz anzeigt.

Auch Mutationen, beispielsweise Punktmutationen, können so bestimmt werden. Die Punktmutationen bestehen in der Veränderung nur eines Nucleotids. Sie werden heute als SNP (Single Nucleotide Polymorphism) bezeichnet. Da sich jedoch die Hybridisierungstemperatur (oft auch als Schmelztemperatur bezeichnet) für Mutationssequenz und Wildtypsequenz nur minimal unterscheiden, ist die Erkennung durch einfache Hybridisierung grundsätzlich fehlerbehaftet, da stets Mutations-DNA und Wildtyp-DNA in bestimmten Verhältnissen gemischt hybridisieren, wobei das Verhältnis sehr stark von der Temperatur abhängt. Im Gegensatz zu diesen Mutationserkennungen durch reine Hybridisierung ist die massenspektrometrische Mutationserkennung sehr sicher und eindeutig.

Massenspektrometrische Mutationserkennung beruht in der Regel auf einer enzymatischen Veränderung der auf die Chips aufgebrachten Sonden, wobei die Veränderung durch die hybridisierten Template gesteuert wird und so Informationen über die Mutationen von den 20 Templayten auf die Sonden übertragen werden. Eine dieser enzymatischen Veränderungen ist die so genannte beschränkte Primerverlängerung. Sie hat eine zeitaufwendigere Probenvorbereitung als die reine Hybridisierung und ist auch in der Messung zeitaufwendiger, da eine synchrone Analyse vieler Proben, wie in manchen Chip-Readern, bisher nicht bekannt ist. Die massenspektrometrische Messung von Mutationen hat aber den Vorzug einer hohen Analysensicherheit, die gerade bei diagnostischen Verfahren, aber auch beispielsweise bei erkennungsdienstlichen Verfahren eine große Rolle spielt.

In der Proteinanalytik können in den Gefachen der Felder Antikörperproteine gebunden werden, die spezifisch bestimmte Proteine aus einer Probe fangen. Aber auch andere Arten von proteinspezifischen Affinitätsbindungen können für die Protein-Chip-Technik verwendet werden. Auf die Proteinanalytik, die außerordentlich viele Varianten bietet, soll hier nicht näher eingegangen werden.

Wie schon dargelegt, hat die Massenspektrometrie den Vorteil großer Analysensicherheit, der aber der Nachteil der zeitaufwendigen Messung gegenübersteht, die gegenüber Chip-Readern etwa 1000-mal langsamer ist. Es ergibt sich daraus die Frage, ob und wie sich die Massenspektrometrie beschleunigen lässt, wobei hier besonders die Spektrometrie ganzer Felder von Proben (Arrays) im Vordergrund steht.

Es besteht für die massenspektrometrischen Analyse von Proben mit Ionisierung durch Laserdesorption eine seltsame Diskrepanz:

a) Einerseits können Pulslaser mit hohen Wiederholraten in der Größenordnung von 10 000 Schuss pro Sekunde hergestellt werden; die Aufnahme eines Massenspektrums würde damit nur etwa 100 Mikrosekunden dauern; es könnten also durchaus 10 000 Einzelspektren pro Sekunde gemessen werden. Bei einem Bedarf von 10 Einzelmassenspektren (aus 10 Laserschüssen) für ein gut auswertbares Summenspektrum könnte die Analyse in nur einer Millisekunde abgeschlossen sein, gut vergleichbar mit Fluoreszenz-Chip-Readern.

b) Andererseits aber besteht für die Ionenerzeugung durch Laserdesorption eine Schwellenenergie, unterhalb derer im Laserdesorptionsprozess gar keine Ionen erzeugt werden. Die Schwellenennergie erwärmt die Proben merklich. Daher führt eine höhere Laserfrequenz als etwa 20 Hertz zu übermäßiger Erwärmung und Degradation vieler Proben. Außerdem führt jeder Laserdesorptionsprozess zur Aufladung der Proben, da nur die Teilchen einer Polarität abgezogen werden, die Teilchen mit der anderen Polarität aber auf die Probe zurückbeschleunigt werden. Besonders bei MALDI-Proben mit ihren isolierenden Matrix-Kristallen ist Zeit nötig, damit die Ladungen wieder abfließen können. Der Abfluss der Ladungen wird auch häufig dadurch verlangsamt, dass Chips als Unterlagen für die Proben aus sehr schlecht leitenden Halbleitern bestehen. Aufladungen zerstören die Qualität der Spektren, da die Ionen aufeinanderfolgender Laserdesorptionen verschiedene Energien erhalten. Es wird also für die 10 benötigten Einzelspektren guter Qualität bisher mindestens etwa eine halbe Sekunde benötigt. Außerdem werden zusätzliche Zeiten für die Bewegung der neuen Probe in den Laserfokus und für das Auslesen der Daten aus dem Transientenrekorden benötigt. Diese Zeiten sind erheblich größer als eine Millisekunde; sie begrenzen bei der Einzelprobenmessung die Folgefrequenz der Probenanalysen auch dann, wenn die Laserschussfrequenz wesentlich erhöht werden könnte.

Man kommt daher heute theoretisch auf Mindestzeiten von etwa einer Sekunde für die Analyse einer Probe, in der Praxis sind die Analysenzeiten für eine Probe noch länger und betragen in routinierten Laboratorien noch immer zwei bis drei Sekunden.

In der Massenspektrometrie hat es aber bereits vor vierzig Jahren Entwicklungen gegeben, die eine mikroskopisch-analytische Abbildung einer kleinen Oberfläche mit einer Ionisierung durch Sekundärionen (SIMS = Sekundärionen-Massenspektrometrie) erzeugte. Vorreiter war die französische Firma Cameca, deren Geräte ionenoptisch abbildende magnetische Sektorfeld-Massenspektrometer waren. Es wurden damit Oberflächenanalysen, meist von Metalloberflächen, gemacht. Über Hell-Dunkel-Bilder konnte dabei die Anwesenheit bestimmter Elemente oder Verbindungen und deren flächige Verteilung ermittelt werden.

Auch Flugzeitmassenspektrometer wurden bereits für die "chemische" Abbildung von Oberflächen durch Laserdesorption verwendet; allerdings nicht mit abbildender Optik, sondern mit

einem Raster-Scan-Verfahren, bei denen die Probe durch den Fokuspunkt des gepulsten Laserstrahls scannend hindurchbewegt wurde und das "chemische Bild" in komplizierter Weise aus vielen Hundert Einzelmassenspektren zusammengesetzt wurde (Beispiel: das Flugzeitmassenspektrometer "Lamma" der Firma Leybold, entwickelt von Kaufmann und Hillenkamp).

- 5 Unter den verschiedenen Arten der Ionisierung durch Laserdesorption hat sich in den letzten Jahren besonders die matrixunterstützte Laserdesorption (MALDI = Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization) durchgesetzt. Das MALDI-Präparations- und Messverfahren besteht darin, dass zunächst die Analytmoleküle auf einem Probenträger in eine feste, UV-absorbierende Matrix, meist eine organische Säure, eingebettet werden. Der Probenträger wird 10 in die Ionenquelle eines Massenspektrometers eingeführt. Durch einen kurzen Laserpuls von etwa 3 Nanosekunden Länge wird die Matrix ins Vakuum verdampft; das Analytmolekül wird dabei mit in die Gasphase befördert. Durch Stöße mit gleichzeitig entstehenden Matrixionen wird die Ionisation des Analytmoleküls erreicht, soweit nicht schon eine primäre Ionisierung aus dem Desorptionsprozess vorliegt.
- 15 MALDI eignet sich ausgezeichnet zur Analyse von Peptiden und Proteinen. Die Analyse von Nucleinsäureketten ist schwieriger, sie gelingt nur für kurzkettige Nucleinsäuren ausreichend gut. Der Grund ist, dass für die Ionisation von Peptiden und Proteinen lediglich ein einziges Proton eingefangen werden muß, für Nucleinsäuren dagegen, die ein Poly-Anion mit einem vielfach negativ geladenen Zucker-Phosphatrückgrat bilden (pro Nucleotid eine negative 20 Ladung), ist der Ionisationprozeß durch die Matrix wesentlich ineffizienter. Er gelingt nur für sehr kurze Ketten ausreichend gut, also beispielsweise für die Spaltprodukte der verlängerten Primer, wie sie durch photospaltbare Linker geschaffen werden können.

Die Ionisierung durch MALDI erzeugt Ionen weit gestreuter Anfangsgeschwindigkeiten, die sich auch unter Verwendung eines energiefokussierenden Reflektors nicht mehr zeitlich 25 fokussieren lassen. Es entstehen Spektren, die nur einmäßiges Auflösungsvermögen besitzen. Durch ein Verfahren der verzögert einsetzenden Beschleunigung lässt das Massenauflösungsvermögen verbessern.

Aufgabe der Erfindung

- Es ist die Aufgabe der Erfindung, eine massenspektrometrische Anordnung zu finden, mit der 30 mehrere räumlich getrennte Proben auf einem Probenträger mit Hilfe einer Ionisierung durch gepulste Laserdesorption gleichzeitig oder quasi-gleichzeitig analysiert werden können, wobei, wenn notwendig, für jede der Proben eine relativ geringe Laserdesorptionsfrequenz verwendet werden kann.

Kurze Beschreibung der Erfindung

- 35 Die Erfindung besteht darin, im Flugzeitmassenspektrometer durch eine besondere Strahloptik für den Laserstrahl ein lagefestes Raster an Fokuspunkten zu erzeugen, jeweils ein Raster von

Proben auf einem Probenträger in das Raster der Fokuspunkte einzuführen, und die Ionen aller Proben in den Laserfokuspunkten des Fokusrasters durch ein ionenoptisches Abbildungssystem auf einen oder mehrere Ionendetektoren abzubilden.

Dabei kann ein gepulster Laserstrahl räumlich auf mehrere Laserfokuspunkte aufgeteilt werden.

- 5 so dass die Proben im Fokusraster jeweils gleichzeitig ionisiert werden, es kann aber auch der Laserstrahl zeitlich so abgelenkt werden, dass alle Proben im lagefesten Fokusraster in einem Rasterscan nacheinander gepulst ionisiert werden. Der Rasterscan wie auch die Pulse des räumlich aufgeteilten Laserstrahls werden dabei mit einer so geringen Frequenz wiederholt, wie es der Verträglichkeit der Proben und der Qualität der erzeugten Spektren, die vom
- 10 Abfluss der Ladungen abhängt, angemessen ist.

Das erfindungsgemäße Flugzeitmassenspektrometer ist durch den charakteristischen Teil des Anspruchs 1 gegeben, es umfasst die Geräteteile, die zu obigem Vorgehen befähigen, insbesondere die Strahloptik zur Erzeugung des Fokusrasters und die Ionenoptik zur Abbildung der Ionen aus den Fokuspunkten auf einen oder mehrere Ionendetektoren.

- 15 Unter dem Begriff "Fokusraster" wird im Folgenden nicht nur die Anordnung der Fokuspunkte, sondern allgemeiner die Zusammenfassung aller Entstehungsorte der Ionen aus den zeitlich gemeinsam zu analysierenden Proben verstanden. Das Fokusraster ist fest mit dem ionenoptischen Abbildungssystem und ebenfalls fest mit dem Lasersystem verbunden, während sich die Proben selbst auf einer verschiebbaren Probenträgerplatte befinden. Das Fokusraster kann
- 20 beispielsweise ein quadratisches Feld aus 4, 9, 16, 25 oder 36 Fokusorten sein, oder auch ein hexagonales Feld aus beispielsweise 7 Fokusorten.

- Unter einem "Fokuspunkt" wird hier die durch eine Linse oder einen Hohlspiegel erzeugte Verengung des gepulsten Laserstrahls verstanden, wobei die Verengung eine vorbestimmte Energiedichte in einer vorbestimmt kleinen Fläche erzeugt. Es muss sich dabei nicht um eine
- 25 Fokussierung im üblichen Sinne des Wortes handeln.

- Die Proben auf dem Probenträger sind in einem Raster aufgebracht, das in seinen Rasterabständen genau den Abständen des Fokusrasters entspricht; es können aber auf der Probenplatte sehr viel mehr Proben vorhanden sein, als in einem Fokusraster untergebracht werden können. So kann das Probenraster auf dem Probenträger sehr viel größer in seiner Fläche als das
- 30 Fokusraster sein, es kann aber auch, obwohl das nicht sehr viel Sinn macht, das Probenraster enger in seinen Abständen als das Fokusraster sein, so dass nur jede zweite oder dritte Probe vom Fokusraster erfasst wird. In jedem Fall kann jeweils ein Teilraster der Proben auf der Probenträgerplatte durch Bewegen des Probenträgers in das Fokusraster hineinbewegt werden. Der Probenträger bleibt danach unbewegt, bis die Proben des Teilrasters, die sich jetzt im
- 35 Fokusraster befinden, alle analysiert sind. Es ist ein Vorteil des Verfahrens, dass die Bewegungen der Proben und mit ihnen die Bewegungen des Probenträgers für die Analyse der Proben im Fokusraster entfallen und die dazu notwendigen Zeiten eingespart werden.

Unter der "Analyse einer Probe" wird hier die Aufnahme eines auswertbaren Massenspektrums und dessen weitere Verarbeitung verstanden, wobei normalerweise für jede Probe mehrere Einzelspektren zu einem Summenspektrum zusammengefasst werden, und nur das Summenspektrum als auswertbares Massenspektrum zählt. Das Summenspektrum hat ein deutlich besseres Signal-zu-Rausch-Verhältnis als die Einzelspektren, und erlaubt vielfach überhaupt erst eine gute Auswertung.

Die Ionenstrahlen, die ihren Ursprung im Auftreffort der fokussierten Laserpulsstrahlen auf die einzelnen Proben im Fokusraster haben, können dabei entweder auf einen einzigen, gemeinsamen Ionendetektor, wie auch auf mehrere Ionendetektoren ionenoptisch abgebildet werden. Es können die Proben im Fokusraster durch einen räumlich aufgeteilten Laserstrahl, der mehrere Fokuspunkte besitzt, gleichzeitig ionisiert werden, oder es können die Proben durch einen jeweils auf eine neue Probe abgelenkten Ionenstrahl zyklisch abgetastet werden, wobei in jedem Zyklus die Einzelspektren aller Proben im Fokusraster je einmal aufgenommen werden, und die Addition der Einzelspektren aus beispielsweise 10 Zyklen die Summenspektren der Proben ergibt.

Dabei ergeben sich drei erfindungsmäßig interessante Konstellationen:

- 1) Die Ionen der verschiedenen Proben im Fokusraster werden von einem aufgespaltenem Laserstrahl gemeinsam und gleichzeitig erzeugt und mit einem Detektor gemeinsam gemessen. Dieser Fall entspricht der Multiplex-Analyse einer Probe mit mehreren Analyten, hat aber den Vorteil einer getrennten Präparation der Proben, die manchmal notwendig ist, und den weiteren Vorteil, dass oft (insbesondere bei Peptiden) beobachtete Verdrängungseffekte ("Quenching") bei der Ionenerzeugung im Laserdesorptionspuls nicht auftreten. Der Laser muss dazu eine erhöhte Strahlenergie besitzen, um gleichzeitig auf jeder Probe die notwendige Schwellenenergie zu liefern.
- 2) Die Ionen der verschiedenen Proben im Fokusraster werden mit einem aufgespaltenem Laserstrahl gemeinsam und gleichzeitig erzeugt, aber durch geeignete ionenoptische Abbildung auf verschiedenen Detektoren getrennt nachgewiesen, wie in Abbildung 1 dargestellt. Die Signale der Detektoren müssen dann parallel verschiedenen Signalprozessoren (Nachverstärker und Transientenrekordern) zugeführt werden. Der Laser muss dazu wiederum eine erhöhte Strahlenergie besitzen. Es sind soviele Nachverstärker und Transientenrekorder parallel zu benutzen, wie Proben in einem Fokusraster analysiert werden sollen.
- 3) Die Ionen der verschiedenen Proben im Fokusraster werden im Rasterscanverfahren zyklisch durch schnelle Ablenkung des Laserstrahles nacheinander ionisiert und von einem einzigen Ionendetektor mit nur einem Nachverstärker und nur einem Transientenrekorder zeitlich geschachtelt gemessen, wie in Abbildung 2 dargestellt. Die Einzelspektren der Proben werden in getrennten Speicherbereichen des Transientenrekorders abgelegt, und gegebenenfalls dort zu je einem Summenspektrum addiert. Dazu ist ein Laser erforderlich, der

eine normale Energiedichte im Laserstrahl, aber gemäß der Anzahl der Proben eine vervielfachte Frequenz besitzt. Der Transientenrekorder braucht dazu einen vergrößerten Speicher, um alle Spektren aufnehmen zu können.

Die Fälle 2) und 3) liefern jeweils getrennte Analysen jeder Probe. Ist es kein Problem, die Strahlenergie des Lasers zu erhöhen, und sind die Transientenrekorder preiswert, so ist sicher die Lösung 2) zu bevorzugen. Ist es dagegen preiswerter, die Laserschussfrequenz zu erhöhen, und sind die Transientenrekorder eher teurer, so stellt die Lösung 3) den besseren Weg dar. Die Erfindung lässt also eine preisliche Optimierung zu. Für die Fälle 1) und 3) können nicht nur lineare Massenspektrometer, sondern auch mit energiefokussierenden Reflektoren ausgerüstete Flugzeitmassenspektrometer eingesetzt werden.

Kurze Beschreibung der Abbildungen

Abbildung 1 zeigt das Schema einer Ausführung eines Flugzeitmassenspektrometers nach dieser Erfindung. Ein Strahlteiler (2) teilt den Laserstrahl aus dem gepulsten Laser (1) und die Laserteilstrahlen werden über zwei feststehende Spiegel (3 und 4) auf Proben gelenkt, die sich auf einem Probenträger (5) befinden. Durch eine nicht gezeigte Linse oder durch einen als Hohlspiegel ausgeführten Spiegel (3) wird die Fokussierung der Laserstrahlen vorgenommen. Neun dieser Proben (in der Seitenansicht sind davon nur drei Proben sichtbar) befinden sich im Fokusraster und werden durch Laserlichtpulse jeweils gleichzeitig ionisiert. Die Ionen der neun Proben werden durch ein fokussierendes Blendensystem (6) abgezogen und bilden Ionenstrahlen (gepunktet) aus, die von einer Einzellinse (7) auf neun Teilbereiche (nur drei davon sichtbar) eines Kanalplatten-Sekundärelektronenvervielfachers (8) projiziert werden. Die in den Teilbereichen verstärkten Sekundärelektronenströme treffen auf neun Anoden (9, drei sichtbar) auf, deren Ströme dann neun Signalverarbeitungseinrichtungen zugeführt werden. Es können damit neun Proben in einer Zeitspanne analysiert werden, die sonst nur einer Probe zur Verfügung steht.

Abbildung 2 gibt das Schema einer anderen Ausführungsform eines Flugzeitmassenspektrometers nach dieser Erfindung wieder. Die Laserlichtpulse eines gepulsten Lasers (1) werden von einem piezo-elektrisch bewegten Spiegel (19) und einem weiteren Spiegel (4) zeitlich nacheinander auf neun Proben des Probenträgers (5) gerichtet. Die Fokussierung des Strahles kann wieder durch eine hier nicht gezeigte Linse, oder durch konvexe Ausführung eines der Spiegel (10) oder (4) erzeugt werden. Die neun Proben befinden sich im zeitlich nacheinander erzeugten Fokusraster. Die Ionenströme der neun Proben (drei davon sichtbar) werden nun zeitlich nacheinander von dem beschleunigenden Blendensystem (6) und der Einzellinse (7) auf die Kanalplatte des Sekundärelektronenvervielfachers projiziert, dort als Sekundärelektronenströme verstärkt und von einem Anodenauffänger (9) aufgefangen. Die zeitlich nacheinder aufgefangenen Spektrenströme werden nun einer einzigen Signalverarbeitungseinrichtung

zugeführt, die die Spektren der Proben getrennt verarbeiten kann, da diese nacheinander anfallen.

Bevorzugte Ausführungsformen

Wird ein gemeinsamer Ionendetektor für gleichzeitig ionisierte Proben verwendet, so hat das Verfahren Ähnlichkeit mit der bekannten massenspektrometrischen SNP-Multiplexanalyse, bei der in einer einzigen Probe verschiedene Einzelmutationen gemeinsam gemessen werden, wobei sich die Produkte der Probenvorbereitung für die einzelnen Mutationsmessungen genügend in ihrer Masse unterscheiden müssen. Die massenspektrometrische Messung von SNPs ergibt im Prinzip im Spektrum nur jeweils ein oder zwei Signale: Homozygot A oder Homozygot B, im heterozygoten Fall sind beide Signale anwesend. Da die Massen im Vorhinein bekannt sind, lassen sich im Prinzip mehrere Spektren ungestört überlagern.

Bei der erfindungsgemäß gemeinsamen Messung verschiedener, gleichzeitig ionisierter Proben mit einem Detektor müssen sich die Massen der zu messenden Produkte ebenso gut unterscheiden wie bei der SNP-Multiplexanalyse, bei der verschiedene SNPs in einer Probe gemessen werden. Es hat sich aber gezeigt, dass die getrennte Zubereitung einzelner Proben Vorteile bieten kann. Es treten auch bei Multiplexanalysen häufig Quenching-Phänomene auf. Diese bestehen darin, dass sich mehrere Analytmoleküle um die beschränkt zur Verfügung stehenden Protonen im Desorptionsplasma streiten: Der Analyt mit der besten Protonen-Affinität gewinnt und Analyten mit geringerer Protonen-Affinität können nicht mehr gut oder überhaupt nicht mehr nachgewiesen werden. Diese Probleme treten in dem erfindungsgemäßen Analysenverfahren mit zeitgleicher Ionisierung verschiedener Proben und gemeinsamer Detektion nicht auf.

Das Abbilden der Ionenströme der einzelnen, gemeinsam ionisierten Proben auf verschiedene Ionendetektoren kann von mehreren Proben pro Detektor bis zu einer einzigen Probe pro Detektor reichen. Mehrere Proben pro Detektor bieten den Vorteil, weniger elektronischen Aufwand für die Nachbearbeitung der Detektorsignale treiben zu müssen, insbesondere können weniger Digitalisierer (Transientenrekorder) eingesetzt werden. Gegenüber dem Fall, alle synchron zu analysierenden Proben mit nur einem Detektor zu messen, ist die Gefahr von Überlappungen der Ionensignale geringer.

Ein elektronisch aufwendiger Fall für eine eindeutige Probenanalyse ist die ionenoptische Projektion der Ionen je einer Probe auf je einen Detektor, wie sie in Abbildung 1 gezeigt ist. In Abbildung 1 werden 3 mal 3 Proben auf 9 Detektoren abgebildet, wobei durch die Seitenansicht nur drei Proben sichtbar sind. Allgemein kann dabei ein kleines Teilfeld der Proben auf dem Probenträger, beispielsweise auch 4 mal 4 Proben oder 5 mal 5 Proben, auf eine entsprechende Anzahl von Detektoren abgebildet werden. Ein einziger Vorgang einer Spektrennahm ergibt dabei gleichzeitig 9, 16 oder 25 Spektren, wobei allerdings auch 9, 16 oder 25 Transientenrekorder eingesetzt werden müssen. Wird jede Probe auch noch mit einer Multiplex-

analyse von durchschnittlich 4 SNPs analysiert, so können in einer einzigen Spektrennahme insgesamt gleichzeitig 36, 64 oder 100 SNPs gemessen werden.

Als System von Detektoren kann beispielsweise eine Sekundärelektronenverstärker-Vielkanalplatte (MCP = Multi-Channel Plate) verwendet werden, die die Ionenströme gemeinsam, aber in räumlich getrennten Teilbereichen verstärkt, an deren Ausgang sich dann beispielsweise 16 Auffangelektroden für die verstärkten Ströme an Sekundärelektronen befinden, die dann je einem Nachverstärker mit nachgeschaltetem Digitalisierer zugeführt werden.

Für die gleichzeitige Ionisierung der Proben wird der Laserstrahl so aufgeteilt, dass ein Fokuspunkt für jede der Proben gebildet wird. Eine solche Aufteilung kann beispielsweise durch eine Anordnung von Quarzkeilen in Verbindung mit einer oder mehreren Linsen erreicht werden. Dabei muss allerdings der Strahlquerschnitt genügend gross sein und eine gleichmäßige Energiedichte aufweisen. Besser sind daher Mikrostreuplatten, wie sie aus der Technik der Laserzeiger bekannt sind und dort den Strahl in beliebige Figuren aufteilen.

Liegen die gleichzeitig zu analysierenden Proben sehr eng zusammen, weist beispielsweise der Gesamtdurchmesser des Probenteilfeldes nicht mehr als etwa 1,5 Millimeter auf, so kann man mit einer einzigen, beschleunigenden Ionenlinsenoptik die Proben als vergrößertes Bild (wie bei einem Projektor) auf die Anordnung von Detektoren projizieren, wie in Abbildung 1 gezeigt. Die Beschleunigungsoptik besteht aus gitterlosen Blenden mit jeweils kreisförmigen Aperturen, die ein System aus Zieh- und Einzellinsen bilden. Eine der Einzellinsen kann dann zur Einstellung der Größe des Bildes und damit zur Anpassung an das Detektorfeld verwendet werden.

Für weitere Abstände der Proben, beispielsweise für Abstände der Proben von je 2,25 Millimetern, wie sie bei einer Mikrotiterplatte mit 1536 Proben zu finden sind, kann man für jede Probe eine einzelne Optik vorsehen, beispielsweise beginnend mit kreisförmigen Öffnungen von je einem Millimeter in einer ersten Beschleunigungselektrode, die sich etwa 3 Millimeter vor der Probenträgerplatte entfernt befindet. Der geteilte Laserstrahl kann dazu schräg durch Nachbarlöcher auf die Proben fallen. Nach anfänglicher Beschleunigung durch solche proben-eigenen Optiken und der Erzeugung eines Gesamtstrahls aus fast parallelen Einzelstrahlen kann dann der Gesamtstrahl aus allen Proben durch eine weite Einzellinse auf das Feld aus Detektoren projiziert werden.

Es ist auch möglich, die Einzelstrahlen durch ein System aus Ionenführungsdrähten zu den Detektoren zu leiten. Ein solches System besteht aus sehr dünnen Drähten auf ionenanziehendem Potential, um das die Ionen herumtanzen. Zwischen den ionenanziehenden Drähten müssen sich hier jeweils ionenabstoßende Drähte befinden. Sind die Ionen nicht durch ihre Anfangsrichtung zufällig so ausgerichtet, dass sie auf die Drähte fallen, so pendeln sie im Vakuum um diese herum, ohne verlustig zu gehen.

Die Signale der Ionenströme der einzelnen Proben können aus den Detektoren je einem Digitalisierer zugeführt werden. Solange solche schnellen Digitalisierer noch sehr teuer sind, kann das Signal aber auch zwischenzeitlich in einem Analogspeicher abgelegt oder in einer Verzögerungsleitung verzögert werden, ehe es dem Digitalisierer zugeführt wird.

- 5 Es können aber auch verschieden lange Flugstrecken der Ionen durch verschiedene lange Wege zu den Ionendetektoren dazu benutzt werden, die Spektren der einzelnen Proben getrennt nacheinander einem Digitalisierer zuzuführen; die verlängerten Flugstrecken dienen also als Verzögerungseinheit für das Ionensignal.

Das Fokusraster kann aber auch durch ein zeitliches Nacheinander der gepulsten Fokuspunkte hergestellt werden, wie es schematisch in Abbildung 2 gezeigt wird. Ein sehr schneller, beispielsweise piezo-elektrisch angetriebener Umlenkspiegel (10) erzeugt das Fokusraster hier zeitlich nacheinander. Solche schnelle Umlenkspiegel sind aus Laserscannern bekannt. Diese Fokusraster haben sogar den Vorteil, leicht durch Verwendung anderer Justierkonstanten in der elektronischen Steuereinheit für den Umlenkspiegel an die Abstände vorgegebener Probenraster angepasst werden zu können. Da die Umlenkspiegel fast masselos sind, gelingt die Umschaltung von einem Fokuspunkt auf einen anderen in Millisekunden zwischen der Aufnahme der Einzelspektren.

Die durch ein zeitliches Fokusraster erzeugten Ionen der verschiedenen Proben werden durch eine Ionenoptik auf einen einzigen Ionendetektor (8, 9) abgebildet. Die Trennung der Spektren der verschiedenen Proben geschieht durch ihre zeitlich versetzte Aufnahme. Es werden damit durch einen Rasterscan zunächst die ersten Einzelspektren aller Proben aufgenommen, alle mit dem gleichen Ionendetektor, alle mit dem gleichen Vorverstärker und Transientenrekorder, wobei die interessierenden Teile der Flugzeitspektren aller Proben in verschiedenen Speicherbereichen des Transientenrekorders abgelegt werden. Nach dem ersten Rasterscan wird in gebührendem Zeitabstand der zweite Rasterscan aufgenommen und die zweite Spektrenserie wird zu den Spektren der ersten Serie hinzugefügt. Das wird fortgesetzt, bis genügend viele Einzelspektren zu Summenspektren addiert sind.

Es kann dabei für jedes Einzelspektrum eine verzögert einsetzende Beschleunigung eingesetzt werden, wenn eine hohe Qualität der Spektren mit hohem Massenauflösungsvermögen gewünscht wird. Die Anwendung eines einzigen Ionendetektors macht auch die Anwendung eines energiefokussierenden Reflektors möglich. Gitterlose Reflektoren erlauben eine zusätzliche Raumwinkelfokussierung.

Es ist dabei vorteilhaft, den Laser und gegebenenfalls auch die Beschleunigungselektronik gleichmäßig zu takten. Das heißt, es werden die Einzelspektren in einem Rhythmus aufgenommen, der sich über die verschiedenen Rasterscans gleichmäßig fortsetzt. Dabei werden die thermischen Verhältnisse, die sich im Laser und in den Versorgungseinheiten der Beschleuni-

gungselektronik einstellen, in ihrem Gleichgewicht gehalten, wodurch sich eine gleichmäßige Spektrenqualität ergibt.

Es werde hier nun eine bevorzugte Ausführungsform geschildert, die ganz auf die Genomik ausgerichtet ist; der Fachmann kann aber die grundlegenden Prinzipien der Erfindungsideen auch auf andere Anwendungsgebiete mit ihren möglicherweise anderen Anforderungen übertragen.

Die analytische Aufgabe, die hier im Besonderen behandelt wird, ist die Erstellung eines Genotypisierungsprofils aus einer DNA-Probe. Dieses Profil kann beispielsweise die Identität eines Menschen oder Tieres betreffen, beispielsweise zum Nachweis einer Täterschaft oder zum Ausschluss von Unterschiebungen (etwa bei Pferden), es kann aber auch ein Vaterschaftsnachweis sein. Mit etwa 50 SNPs kann ein Mensch eindeutig identifiziert werden. Ein genotypisches Profil kann aber auch für die vorsorgende Erkennung von Krankheitsanlagen, oder aber für eine individualisierte Medikation (die "persönliche Pille") erstellt werden. Es ist vorauszusehen, dass diese Messungen von genotypischen Profilen unter der Anforderung einer hohen Analysensicherheit in Zukunft eine überragende Rolle in der Medizin, der Tierzüchtung und der Pflanzenzüchtung spielen wird. Die hohe Analysensicherheit kann bisher nur von der Massenspektrometrie garantiert werden.

Es werde hier nunmehr ein Verfahren geschildert, das mit extrem hoher Analysensicherheit 288 SNPs in einer DNA-Probe zeitsparend misst und einfach durchzuführen ist. Ein Umsetzen auf andere Anzahlen ist nicht schwer.

Dazu wird die DNA-Probe zunächst für eine Multiplex-Polymerase-Kettenreaktion (PCR = polymerase chain reaction) vorbereitet, indem zusammen mit einer Lösung von Polymerase, der vier dNTPs (Desoxinucleosid-Triphosphate) und Puffern auch 288 Primerpaare hinzugegeben werden. Die Primerpaare sind so ausgewählt, dass sie alle den gleichen PCR-Bedingungen für eine erfolgreiche Amplifizierung genügen; für diese Auswahl gibt es heute erfolgreiche Computerprogramme. Je ein Primerpaar erzeugt dabei ein DNA-Segment, das eine SNP-Mutationsstelle umfasst. Das DNA-Segment soll eine Länge von etwa 60 bis 100 Nucleotiden haben.

Die anschließende Amplifizierung durch die bekannten Temperaturzyklen liefert also für jede der ausgesuchten SNPs ein doppelsträngiges DNA-Stück, das nicht weit von seiner Mitte entfernt die SNP-Stelle trägt. Von diesen DNA-Segmenten sind nach der Amplifizierung jeweils viele Milliarden Stück vorhanden. Diese DNA-Segmente können beispielsweise adsorptiv an magnetische Kugelchen gebunden und so von allen Beimengungen durch Waschen gereinigt werden. Anschließend an die Reinigungsschritte werden den DNA-Segmenten wiederum Polymerase, Puffer und NTPs für eine beschränkte Primerverlängerung zugegeben, wobei es sich bei den NTPs dieses Mal um Didesoxinucleosid-Triphosphate (ddNTPs) handelt,

die bei ihrem Anbau an die Verlängerungsprimer jede weitere Verlängerung verhindern und damit die Verlängerung terminieren.

Alle diese Prozesse können vorzugsweise in so genannten Mikrotiterplatten (MTPs) durchgeführt werden. Sie haben beispielsweise 96 Einzelgefäße in einer weitgehend normierten Platte der Größe von ca. 8 mal 12 Zentimeter.

In diese Gefäße werden nun jeweils Chips eingeführt, die die Verlängerungsprimer tragen und auf denen die weitere Probenvorbereitung bis zur massenspektrometrischen Analyse abläuft. Diese Chips sind etwa 3,5 mal 3,5 Millimeter groß und tragen auf einem Feld von 3 mal 3 Millimeter insgesamt 144 Gefäße, jedes quadratische Gefach hat eine Kantenlänge von 200 10 Mikrometern; zwischen den Gefäßen sind hydrophobe Stege von je 50 Mikrometer Breite. Auf jedem der neun Quadratmillimeter des Gesamtfeldes befinden sich somit je 16 Gefäße, deren 16 Proben sich später in einem Rasterscan gemeinsam messen lassen.

Jedes Gefach ist nun mit insgesamt je vier Verlängerungsprimern einer speziellen Art belegt. Die Verlängerungsprimer sind so ausgewählt, dass sie mit ihrem 3'-Ende genau benachbart zu 15 einer Mutationsstelle eines der aus den Doppelstrang-Segmenten gewonnenen DNA-Einzelstränge hybridisieren. Dabei sind jeweils zwei Verlängerungsprimer für ein DNA-Doppelstrangsegment vorgesehen: je einer für die beiden Einzelstränge. Diese beiden Primer sind die Basis für zwei unabhängige Analysenverfahren für je eine Mutation, durch diese interne Kontrolle wird eine ungewöhnlich hohe Analysensicherheit auch ohne die sonst in der Medizin 20 üblichen Doppelbestimmungen gewonnen.

Diese Primer sind mit ihrem 5'-Ende an die Oberfläche der Chips gebunden. Sie sind wie gewöhnlich etwa 20 Nucleotide lang, tragen aber genau 4 Nucleotide von ihrem 3'-Ende entfernt einen photospaltbaren Linker, der genau ein Nucleotid überbrückt und weder die Hybridisierung noch die enzymatische Verlängerung durch speziell angewandte Polymerase 25 stört.

Nach dem Einbringen der Chips in die Gefäße mit den amplifizierten DNA-Segmenten beginnt nun die beschränkte Primerverlängerung. Durch die üblichen Temperaturzyklen werden die DNA-Einzelstränge an die Verlängerungsprimer gebunden, und die Verlängerungsprimer werden um genau ein Nucleotid verlängert. Dieses Nucleotid spiegelt genau die Art der Mutationsstelle wieder, da ja die Ausgangs-DNA als Kopiervorlage ("Templat") für die Verlängerung dient.

Nach der beschränkten Verlängerung der an die Chips angebundenen Verlängerungsprimer werden die Chips gewaschen und von allen Polymerasen, Puffern, ddNTPS und Templaten 35 befreit. Es befinden sich dann nur noch die verlängerten Primer auf dem Chip. Das Chip wird sodann getrocknet und einer UV-Bestrahlung ausgesetzt. Diese Bestrahlung spaltet die Linker; es werden die Enden der Primer frei. Diese Enden aber tragen die Information über die Mutati-

onsstelle, und zwar messbar in ihrer Masse, da sich die verschiedenen Nucleotide um mindestens neun, höchstens 40 atomare Masseneinheiten unterscheiden. Die Spaltstücke sind immer genau 5 Nucleotide lang; die Massen dieser Endstücke liegen zwischen etwa 1600 und 1800 atomaren Masseneinheiten.

- 5 Diese Endstücke werden nun mit einer aufgebrachten Matrix-Lösung für eine Ionisierung durch matrixunterstützte Laserdesorption (MALDI = Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization) aufgenommen und durch Trocknen für die massenspektrometrische Analyse vorbereitet.

Mit bisherigen Massenspektrometern der modernsten Klasse lassen sich solche Proben in
10 jeweils nur zwei Sekunden messen. Sollen die 96 Chips mit je 144 Proben (mit jeweils 4
gemultiplexten SNPs) gemessen werden, so dauert das etwa 8 Stunden. Verglichen mit der
Probenvorbereitung, die etwa in zwei Stunden abgeschlossen sein kann, ist das erheblich zu
lange.

Mit einem Massenspektrometer nach dieser Erfindung sieht das jedoch ganz anders aus.

15 Werden jeweils 16 Proben, die sich auf einem Quadratmillimeter befinden, auf einmal gemessen,
so dauert der massenspektrometrische Teil der Analyse nur noch insgesamt eine halbe
Stunde, immer noch unter der Voraussetzung, dass die Analyse jeder Probe zwei Sekunden
dauert. Da die Bewegungen zwischen den 16 Proben wegfallen, kann aber die Analyse in einer
Sekunde erfolgen, die gesamte Analysenzeit wird auf eine Viertelstunde reduziert.

20 Dabei wird zweckmäßigerweise eine Spiegel-Ablenkeinheit benutzt, die die Fokuspunkte des
Fokusrasters zeitlich nacheinander erzeugt, und eine Ionenoptik, die die Ionen aller Proben auf
einen Ionendetektor projiziert. Die Ionenströme der Proben werden somit von einem einzigen
Transientenrekorder nacheinander verarbeitet, wobei nur der Ionenstrombereich der Flugzei-
ten, die dem Massenbereich von 1600 bis 1800 atomaren Masseneinheiten entsprechen,
25 gespeichert werden. Nach Aufnahme der jeweils 16 Summenflugzeitspektren werden diese
einer Recheneinheit zugeleitet, die die Massen berechnet, die Genotypisierungsprofile bestimmt
und aus ihnen die medizinisch oder sonstwie relevante Information extrahiert.

Ansprüche

1. Flugzeitmassenspektrometer für die Analyse von räumlich getrennten Proben auf einem Probenträger durch Laserdesorption mit einem gepulsten Laser und mit zeitlich hochauflösenden Ionendetektoren für die Messung der Ionenströme,
5 gekennzeichnet durch
eine Strahloptik für den Laser, die ein Fokusraster von lagefesten Fokuspunkten erzeugt, eine Bewegungseinrichtung für den Probenträger, die mindestens einen Teil der Proben in die Laserfokuspunkte des Fokusrasters bringen kann, und ein ionenoptisches System, das alle Ionen, die in den Fokuspunkten durch Laserdesorptionspulse erzeugt werden, auf einen oder mehrere Ionendetektoren abbildet.
- 10 2. Flugzeitmassenspektrometer nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Fokusraster 4, 7, 9, 16, 25 oder 36 Fokuspunkte umfasst.
- 15 3. Flugzeitmassenspektrometer nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Probenträger viele räumlich getrennte Proben in einem Raster enthält, dessen Abstände den Abständen der Fokuspunkte des Fokusrasters entsprechen.
- 20 4. Flugzeitmassenspektrometer nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass für die Analyse jeder Probe jeweils die Ionenspektren aus mehreren gepulsten Laserdesorptionen dieser Probe benötigt werden.
- 25 5. Flugzeitmassenspektrometer nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Strahloptik eine Strahlteiler zur räumlichen Strahlaufteilung enthält, wobei die Strahlaufteilung die gleichzeitige Bildung der Laserpulsfokuspunkte des Fokusrasters bewirkt.
6. Flugzeitmassenspektrometer nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass das ionenoptische System die Ionen aller Proben im Fokusraster auf einen Detektor für die gemeinsame Messung der Ionenströme abbildet.
7. Flugzeitmassenspektrometer nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass das ionenoptische System die Ionen jeder Probe im Fokusraster jeweils auf einen eigenen Ionendetektor abbildet.
- 30 8. Flugzeitmassenspektrometer nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die probenzugeordneten Ionendetektoren aus einem gemeinsamen Vielkanalplattenvervielfacher mit mehreren räumlich getrennten Anoden bestehen.

9. Flugzeitmassenspektrometer nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass eine Strahloptik, ein Ionendetektor und eine Signalverarbeitungseinrichtung vorhanden sind, wobei die Strahloptik den Laserstrahl zeitlich nacheinander auf jeden Fokuspunkt des lagefesten Fokusrasters lenkt, so dass der Ionendetektor die Ionenströme der Proben zeitlich nacheinander aufnehmen und der Signalverarbeitungseinrichtung zuführen kann.
10. Flugzeitmassenspektrometer nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Proben im Fokusraster zyklisch einer Laserpulsdesorption zugeführt werden, dass in jedem Zyklus über die Fokuspunkte des Fokusrasters jede Probe nur einmal laserdesorbiert wird, und dass die jeweiligen Spektren der Proben über mehrere Zyklen addiert werden.
- 10 11. Verfahren zur Analyse von Proben in einem Flugzeitmassenspektrometer durch Laserdesorption mit einem gepulsten Laser,
dadurch gekennzeichnet,
dass durch eine Strahloptik für den Laserstrahl ein lagefestes Raster an Fokuspunkten erzeugt wird,
- 15 dass jeweils mehrere Proben auf einem Probenträger in die Orte der Fokuspunkte des Fokusrasters eingeführt werden, und
dass die Ionen aller Proben, die in den Laserfokuspunkten des Fokusrasters durch gepulste Laserdesorption erzeugt werden, durch ein ionenoptisches Abbildungssystem erfasst und auf einen oder mehrere Ionendetektoren abgebildet werden.
- 20 12. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass in der Strahloptik ein Strahlauftreter den gepulsten Laserstrahl so aufteilt, dass die Fokuspunkte des Fokusrasters synchron entstehen, und dass die synchron gebildeten Ionen der Proben durch das ionenoptische Abbildungssystem auf einen gemeinsamen Ionendetektor abgebildet werden.
- 25 13. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass ein Strahlauftreter den gepulsten Laserstrahl so aufteilt, dass die Fokuspunkte des Fokusrasters im Strahlpuls synchron entstehen, und dass die synchron gebildeten Ionen der Proben durch das ionenoptische Abbildungssystem auf Ionendetektoren, die den Proben jeweils zugeordnet sind, abgebildet werden.
- 30 14. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass ein bewegtes Ablenkssystem den Laserstrahlfokus zeitlich nacheinander in die Fokuspunkte des Fokusrasters lenkt, und dass die Ionenströme der Proben mit einem Ionendetektor zeitlich nacheinander gemessen werden.

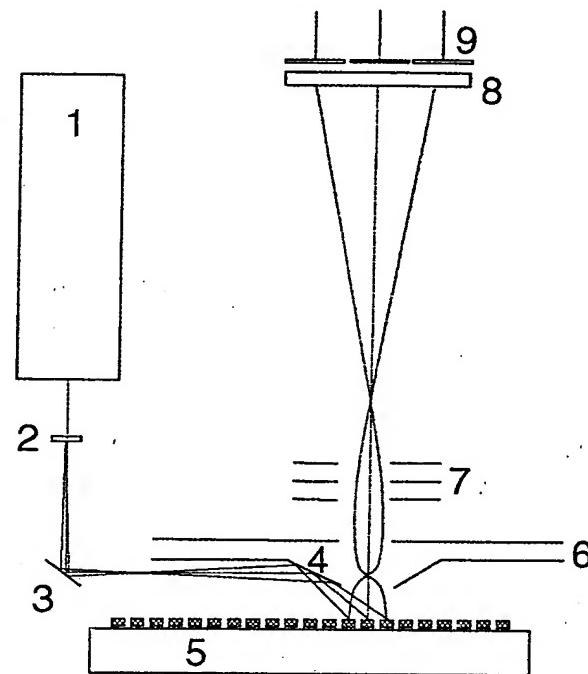


Abbildung 1

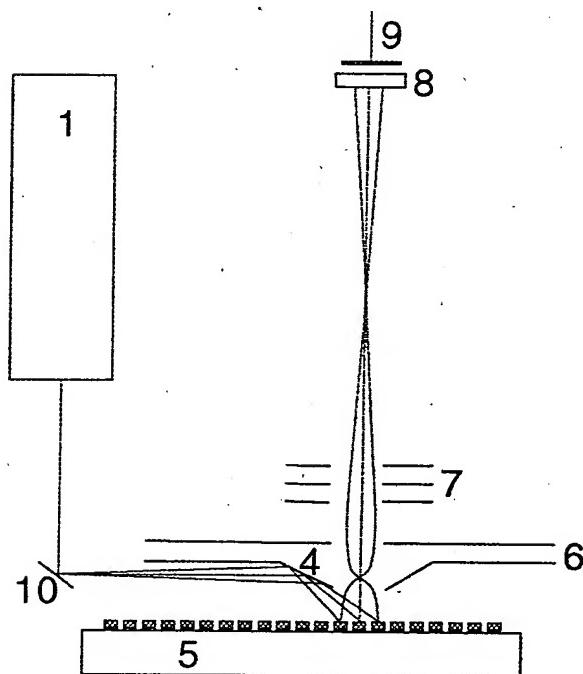


Abbildung 2